

## 高效液相色谱法测定人血浆中多潘立酮的浓度

纪宏宇<sup>1,2</sup> 曲福军<sup>1,2</sup> 刘红梅<sup>1,2</sup> 李湘晖<sup>1,2</sup> 黄丽军<sup>1,2</sup> (1. 哈尔滨医科大学附属第二医院药学部 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省高校重点实验室)

**摘要** 目的: 建立测定人血浆中多潘立酮浓度的高效液相色谱法。方法: 以普萘洛尔为内标, 取血浆样品用  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  氢氧化钠溶液碱化后乙醚提取, 再用  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  盐酸溶液提取乙醚中药物, 取  $20 \mu\text{l}$  进行 HPLC 测定。色谱柱: Diamonsil  $\text{C}_{18}$  ( $200 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$ ), 流动相: 乙腈- $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸盐缓冲液 (pH 3.5) (25:75), 荧光检测器激发波长: 282 nm; 发射波长: 326 nm, 流速:  $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温:  $25^\circ\text{C}$ 。结果: 标准曲线的线性范围为  $1.0 \sim 100.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  ( $r=0.9992$ ), 相对回收率在 99.1%~108.8% 之间, 日内和日间 RSD 均小于 10%。结论: 该方法具有操作简便可靠, 准确, 稳定性高等特点, 适用于多潘立酮血药浓度的测定。

**关键词** 多潘立酮; 高效液相色谱法; 血药浓度

中图分类号: R969.1 文献标识码: A 文章编号: 1008-049X(2011)01-0080-02

### Determination of Domperidone in Human Plasma by HPLC

Ji Hongyu<sup>1,2</sup>, Qu Fujun<sup>1,2</sup>, Liu Hongmei<sup>1,2</sup>, Li Xianghui<sup>1,2</sup>, Huang Lijun<sup>1,2</sup> (1. Department of Pharmacy, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Heilongjiang Harbin 150086, China; 2. Key Laboratory of Drug Research, College of Heilongjiang Province)

**ABSTRACT** **Objective:** To develop an HPLC method for determination of domperidone in human plasma. **Method:** Propranolol was used as the internal standard. After alkalinized by  $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaOH, plasma was extracted by diethyl ether, then drug in diethyl ether was extracted by  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  HCl and determined by HPLC. A Diamonsil  $\text{C}_{18}$  column ( $200 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$ ) was used. Mobile phase was a mixture of acetonitrile and  $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$   $\text{KH}_2\text{PO}_4$  buffer (pH 3.5) (25:75). The excitation wavelength and emission wavelength was 282 nm and 362 nm, respectively. The flow rate was  $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$  and the column temperature was  $25^\circ\text{C}$ . **Result:** Calibration curves were linear within the concentration range of  $1.0 \sim 100.0 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ . The recovery was 99.1%~108.8%. The intra-day and inter-day RSD were both less than 10%. **Conclusion:** This method is simple, accurate, stable and suitable for determination of domperidone in human plasma.

**KEY WORDS** Domperidone; HPLC; Plasma concentration

多潘立酮 (domperidone, DP) 是一种合成的苯丙咪唑类衍生物, 具有强效的外周多巴胺受体阻滞作用, 可直接作用于胃肠壁上的多巴胺受体 ( $\text{D}_2$  受体), 而起到增强胃动力作用, 临床上主要用于治疗功能性消化不良<sup>[1]</sup>、糖尿病性胃轻瘫<sup>[2,3]</sup>、胃食管反流<sup>[4]</sup>等疾病, 具有口服吸收迅速、半衰期长、耐受性好、不良反应少等特点。本实验采用荧光检测器, 通过对提取方法的改进, 建立了简单、经济、灵敏度高并能满足试验要求的 HPLC 方法来测定人血浆中多潘立酮的浓度。

#### 1 仪器与试剂

Waters 高效液相色谱系统 (包括 Waters 616 高压泵、Waters 470 荧光检测器、Waters 717plus 自动进样器、Empower 数据处理系统) (美国 Waters 公司), AEL-40SM 十万分之一精密天平 (日本岛津公司), CAY-1 型液体快速混合器 (北京长安仪器厂), LD4-2 型低速离心机 (北京医用离心机厂),

pHS-3C 型酸度计 (上海伟业仪器厂)。

多潘立酮对照品 (中国药品生物制品检定所, 批号: 100304-200502), 内标: 普萘洛尔对照品 (PN, 黑龙江江世药业有限公司提供, 纯度 >99.4%), 乙腈为色谱纯, 其他试剂为分析纯, 水为自制去离子水。

#### 2 方法与结果

##### 2.1 色谱条件

色谱柱: Diamonsil  $\text{C}_{18}$  ( $200 \text{ mm} \times 4.6 \text{ mm}, 5 \mu\text{m}$ ); 流动相: 乙腈- $0.02 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  磷酸盐缓冲液 (pH 3.5) (25:75); 荧光检测器激发波长: 282 nm, 发射波长: 326 nm, 增益: 1000; 流速:  $1.0 \text{ ml} \cdot \text{min}^{-1}$ , 柱温:  $25^\circ\text{C}$ 。

##### 2.2 溶液的配制

2.2.1 对照品溶液 精密称取多潘立酮对照品约 10 mg, 置于 100 ml 量瓶中, 加甲醇溶解并定容至刻度, 摇匀, 即得

通讯作者: 黄丽军 Tel: (0451) 86605835 E-mail: hljuen@sina.com

4 许良葵, 张蜀, 林华庆, 等. 盐酸左旋沙丁胺醇缓释片释放度测定方法的研究[J]. 广东药学院学报, 2007, 23(6): 607-614

5 陈琪. 高效液相色谱法测定甲钴胺片的含量[J]. 中国生化药物杂志, 2003, 24(5): 251-252

6 吴琼珠, 戴永健, 刘卫卫, 等. HPLC 法测定甲钴胺的有关物质[J]. 南京军医学院学报, 2003, 25(4): 221-222

(2010-06-17 收稿 2010-10-25 修回)

100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的多潘立酮溶液,再精密吸取该液0.5 ml置100 ml量瓶中,加入甲醇稀释至刻度,摇匀,即得500  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的多潘立酮标准贮备液;再依次配成1.0,5.0,10.0,20.0,50.0,100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的多潘立酮对照品溶液。

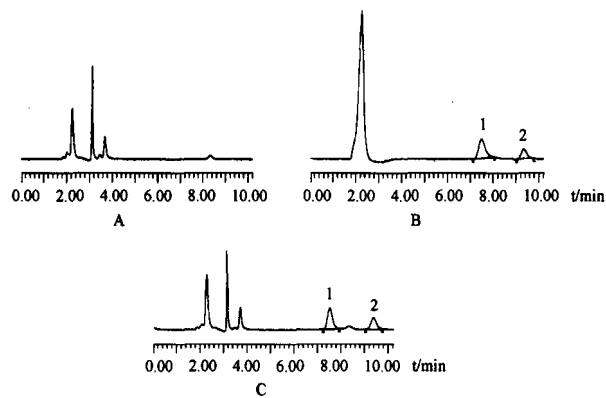
2.2.2 内标溶液 精密称取普萘洛尔10 mg,置100 ml量瓶中,加入甲醇溶解并定容至刻度,摇匀,即得100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的内标溶液。

2.3 血浆处理方法

取血浆900  $\mu\text{l}$ 置于10 ml玻璃离心管中,加入内标普萘洛尔溶液50  $\mu\text{l}$ ,涡旋30 s,然后加入0.1  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液100  $\mu\text{l}$ 旋涡振荡30 s,用6 ml乙醚分两次提取,充分涡旋10 min,于3 000  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心5 min,吸取上层乙醚相于另一试管中,向其中加入0.2  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 盐酸溶液150  $\mu\text{l}$ 涡旋10 min,充分提取乙醚相中的药物后,取20  $\mu\text{l}$ 进行HPLC测定。

2.4 专属性考察

以“2.1”项下色谱条件,分别按“2.3”项血浆处理方法处理空白血浆和加入DP对照品的血浆,吸取处理后溶液 and 对照品溶液各20  $\mu\text{l}$ ,注入液相色谱仪,记录色谱图。DP与血浆中的内源性物质能够较好地分离。DP的保留时间约为7.5 min,结果见图1。



A. 空白血浆 B. 对照品溶液 C. 空白血浆 + 对照品(20.00  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )  
1. 多潘立酮 2. 普萘洛尔  
图1 高效液相色谱图

2.5 线性关系考察

精密吸取不同浓度DP对照品溶液适量加空白血浆配成浓度分别为1.0,5.0,10.0,20.0,50.0,100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的血浆样品,按“2.3”项下操作,取上清液20  $\mu\text{l}$ 进样,记录色谱图。以待测物浓度( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )为横坐标X,待测物的峰面积( $A_s$ )与内标峰面积( $A_i$ )的比值( $A_s/A_i$ )为纵坐标Y,用加权最小二乘法进行线性回归,求得标准曲线方程为: $Y = 0.0165X + 0.0544$ ,  $r = 0.9992$ ,结果表明多潘立酮在1.0 ~ 100.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 范围内线性关系良好。DP血浆样品最低检测浓度为1.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.6 精密度试验

取低、中、高3种浓度血浆样品溶液,按照“2.3”项下操作,每种浓度做5份样品,记录色谱图。计算多潘立酮峰面积 $A_s$ 和内标峰面积 $A_i$ 的比值。将比值代入当天标准曲线求算血浆浓度,连续3 d,求算日内和日间RSD。结果见表1。

表1 血浆中多潘立酮的回收率和精密度( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

| 浓度<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) | 测得结果                                        |                  |              |              |
|-------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------|--------------|--------------|
|                                           | 测得浓度<br>( $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ) | 相对回收率<br>(%)     | 日内RSD<br>(%) | 日间RSD<br>(%) |
| 5.0                                       | 4.96 $\pm$ 0.37                             | 99.1 $\pm$ 7.38  | 4.47         | 5.69         |
| 20.0                                      | 21.76 $\pm$ 0.47                            | 108.8 $\pm$ 2.35 | 1.87         | 4.35         |
| 50.0                                      | 52.78 $\pm$ 0.64                            | 105.6 $\pm$ 1.28 | 1.14         | 1.49         |

2.7 回收率试验

取低、中、高3种浓度血浆样品溶液,按照“2.3”项下操作,每种浓度做5份样品,记录色谱图。计算多潘立酮峰面积 $A_s$ 和内标峰面积 $A_i$ 的比值。将比值代入当天标准曲线求算血浆浓度与真实值的比值即为相对回收率。结果见表1。

2.8 稳定性试验

取低、中、高3种浓度血浆样品溶液,按照“2.3”项下操作,每个浓度各配制20份血浆样品,取3个浓度各5份样品按“2.3”项下立即处理,测得血浆药物浓度;5份在室温下放置2 h,按“2.3”项下处理,测得血浆中药物浓度;5份反复冻融3次,按“2.3”项下处理,测得血浆中药物浓度;5份置于-20  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻30 d后解冻,按“2.3”项下处理,测得血浆中药物浓度。结果其RSD均小于10%。

3 讨论

多潘立酮的血药浓度测定方法已有文献报道<sup>[5-7]</sup>,其中质谱分析方法选择性好,但样品处理步骤复杂、费用高,且由于受仪器条件限制,难以在临床上推广。本实验采用高效液相色谱-荧光检测法多潘立酮,操作简单、成本较低廉,灵敏度及选择性较强,结果较为理想。

本实验用乙醚替代了毒性较大的二氯甲烷、氯仿等有机溶剂,且通过液液萃取,无需挥干有机溶剂,方法简单、耗时较短、对空气污染小;采用两次萃取,有效地提高了样品的回收率,方法重现性好;采用荧光检测器灵敏度较高,最低检测限为1.0  $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ ,完全可以满足临床实验的需要以及相关指导原则的要求。

选用盐酸普萘洛尔作为内标物,在本试验色谱条件下多潘立酮和盐酸普萘洛尔的保留时间分别为7.5 min和9.4 min,样品与内标物分离度良好,内源性物质不干扰测定。

综上所述,本方法快速、灵敏、简便、适合多潘立酮的血药浓度监测和药动力学研究。

参 考 文 献

1 杨小钦.多潘立酮治疗功能性消化不良临床观察[J].现代医药卫生,2008,24(18):2779-2780  
2 崔莉红,王洪志,张文康.多潘立酮联合精制大黄片治疗糖尿病胃轻瘫[J].天津中医,2002,19(6):28-29  
3 秦鹏明,蒋青,吕丹,等.健脾理气汤与多潘立酮治疗糖尿病胃轻瘫的对照研究[J].黑龙江中医药,2006,1:13-14  
4 彭俊文.奥美拉唑与多潘立酮联合应用治疗小儿胃食管反流病疗效观察[J].中国现代医药杂志,2008,10(1):10-12  
5 汪祥,张晏芝,栾家杰.高效液相色谱-紫外检测法测定血浆多潘立酮[J].安徽医药,2007,11(3):219-220  
6 郝光涛,董瑞华,高洪志,等.HPLC-MS-MS法定量测定人血浆中多潘立酮的浓度[J].中国药物应用与检测,2008,5(5):19-21  
7 王茜,南峰,余勤,等.LC-MS/MS法测定人体血浆中多潘立酮含量[J].现代预防医学,2009,36(16):3112-3113  
(2010-08-04 收稿 2010-09-13 修回)